

25X1

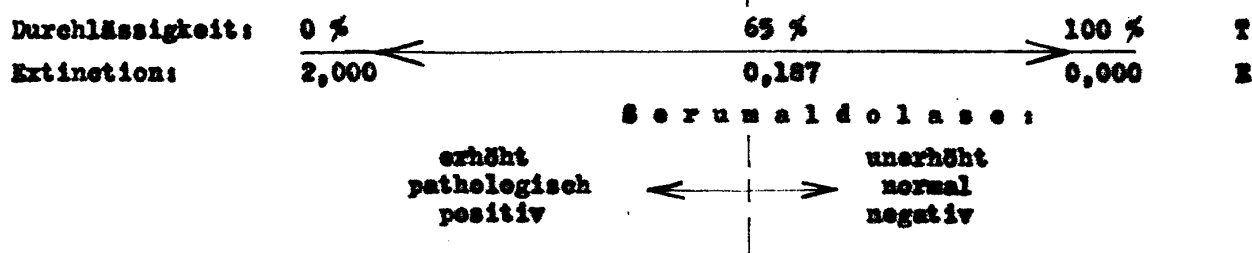
Page Denied

Kurze Uebersicht unserer Erfahrungen mit
Serumaldolasebestimmungen
bei Hepatitis epidemica.

Dr J. Rampas, Dr J. Trlifajová: Institut für Epidemiologie u. Mikrobiologie, Praha.
Direktor Prof. Dr K. Raška.

Im Institut für Epidemiologie und Mikrobiologie in Prag haben wir bisher weit über 1000 Aldolasebestimmungen durchgeführt. Untersucht wurden Sera von Kindern und Erwachsenen mit Hepatitis, verschiedenen anderen Krankheiten, sowie Sera von gesunden Kindern und Erwachsenen.

Nach unseren Erfahrungen lag die Grenzsone zwischen normalen und pathologischen Werten des Serumaldolasepiegels bei etwa 63% Durchlässigkeit /0,187/.



Bei wiederholten Bestimmungen der Aldolase in einer Serumprobe kommt es allerdings zu einer gewissen Streuung der Werte, die aber niemals ein klar positives oder negatives Ergebnis in die andere Zone verschieben kann.

Selbstverständlich soll bei der Beurteilung aller Resultate, besonders aber der Werte, die nahe der Grenze zwischen der positiven und negativen Zone liegen und ganz vorsichtig beurteilt werden müssen, immer das Ergebnis einer gründlichen klinischen Untersuchung vorliegen, und auch die Dauer und Verlauf der Krankheit sowie das Alter des Kranken soll bei der Auswertung des Resultates in Erwägung gezogen werden.

Erhöhungen des Niveaus der Serumaldolase kommen auch bei anderen Krankheiten vor /s.B. manche Fälle von Ca, Nephrose, progressiver Muskeldystrophie, Tetanus u.s.w./; bei der Diagnostik von Hepatitis epidemica dürften aber solche Fälle kaum besonders störend wirken.

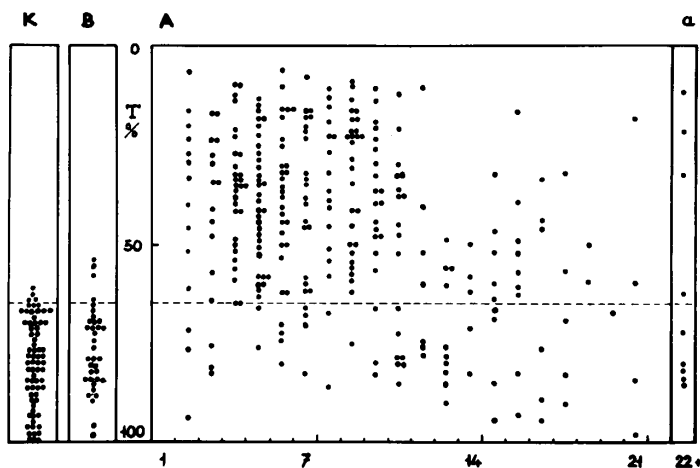
Das wichtigste Ergebnis, welches aus unserem Material hervorgeht, ist, dass bei Blutentnahme bis zum 10. Tage nach Krankheitsbeginn bei klinisch bewiesenen Fällen von ikterischer oder anikterischer Hepatitis epidemica von Kindern oder Erwachsenen der Aldolasetest in etwa 90% positiv war. Bei Kindern kehrt der erhöhte Aldolasepiegel meist rascher zur Norm zurück, bei Erwachsenen ist der Rückgang oft erheblich langsamer. In einigen wenigen Fällen fanden wir pathologische Werte der Serumaldolase sogar bevor es zur Entwicklung von klinisch feststellbaren Symptomen kam.

Zusammenfassend können wir abschließen, dass der Aldolasetest, obwohl - wie alle anderen Reaktionen - für Hepatitis epidemica nicht spezifisch, eine empfindliche und recht frühzeitig positiv reagierende Methode darstellt, welche für die klinische Diagnostik sowie gezielt angelegte epidemiologische Forschungsarbeiten gleich bedeutungsvoll sein kann.

Graphische Darstellung einiger Ergebnisse des Aldolasetestes.

Horizontale Achse: Tag der Blutentnahme nach Krankheitsbeginn.

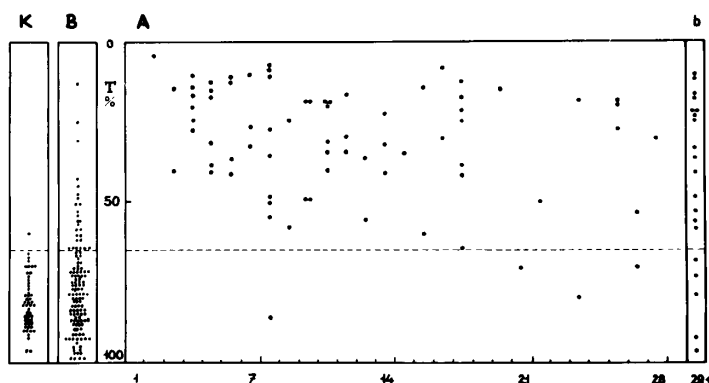
Vertikale Achse: In % der Durchlässigkeit ausgedrückte Ergebnisse der Messungen.



a A: Bestimmungen bei Kindern, die als Hepatitis epid. hospitalisiert wurden.

a K: Kontrollbestimmungen bei gesunden Kindern.

a B: Kontrollbestimmungen bei kranken Kindern mit anderen Diagnosen als Hepatitis epidemica.



b A: Bestimmungen bei Erwachsenen mit ikterischer Hepatitis epidemica.

b K: Kontrollbestimmungen bei gesunden Erwachsenen.

b B: Kontrollbestimmungen bei kranken Erwachsenen mit anderen Diagnosen als Hepatitis epidemica.

Methodik des Aldolacetates /nach Prof. Tovarnický/.A/ Reagentien:1/ 0,02 M 1,6 Fruktosediphosphorsaures Natrium /Fdp/

Die Lösung wird aus Bariumsals auf folgende Weise zubereitet:

270 mg Fruktosediphosphorsaures Barium werden in 3,5 ml N HCl / 8,5 ml HCl, Dichte 1,19 / 100 ml H₂O / gelöst. Nach Zugabe von 1 ml M Na₂SO₄ / 14% / wird zentrifugiert und die klare Flüssigkeit mit einem Tropfen der Na₂SO₄-Lösung auf Abwesenheit von Ba⁺⁺ geprüft. Dann wird die klare Flüssigkeit in einen 25 ml Messkolben abgesogen, mit 3% NaOH auf pH 7,4 adjustiert und der Kolben bis zur Marke mit H₂O dest. nachgefüllt. Auf diese Weise entsteht eine annähernd 0,02 M Lösung von Natriumfruktosediphosphat, die nach Zugabe von einigen Tropfen Toluol im Eisschrank bei 4° C mindestens 14 Tage gebrauchsfähig bleibt.

2/ 0,056 M Hydrazinsulphat

7,5 g des Salzes werden in einem 100 ml Messzylinder in wenig Wasser unter Zugabe von NaOH gelöst und nach Erlangung von pH 7,4 mit dest. H₂O auf 100 ml nachgefüllt.

3/ 0,002 M Monojodessigsäure

0,04 g in 100 ml dest. H₂O lösen, mit NaOH pH auf 7,4 adjustieren.

4/ 0,1 M Kollidin / 2,4,6 Trimethylpyridin /

1,3 ml Kollidin in 100 ml dest. H₂O lösen, pH nötigenfalls mit HCl auf 7,4 adjustieren.

5/ 2,4 Dinitrophenylhydrazin

0,1 g in 100 ml 2N HCl / 17 ml HCl, Dichte 1,19 / 100 ml dest. H₂O / lösen.

6/ 10% Trichloressigsäure7/ 3% NaOH8/ 0,04% Bromthymolblau /Indikator/

0,01 g des Farbstoffes in 3,2 ml 0,2% NaOH lösen und mit dest. H₂O auf 25 ml anfüllen. / Zur Einstellung von pH 7,4 - 7,6 /.

Anmerkung: Bei unseren Arbeiten benützten wir für pH-Einstellungen an Stelle des Indikators ein elektrisches pH-Meter.

B/ Durchführung der Reaktion:

Zu 0,5 ml Serum folgende Lösungen zugeben:

0,5 ml Kollidin,	oder 0,86 ml einer Mischung von	5 T Kollidin,
0,12ml Hydrazinsulphat,		1,2 T Hydrazin,
0,12ml Jodessigsäure,		1,2 T Jodessigs.,
0,12ml H ₂ O		1,2 T H ₂ O

und 0,12 ml Pdp - Lösung.

Inkubation im Wasserbad 38° C / 1 Stunde, dann durch Zugabe von 1,5 ml Trichloroessigsäure Eiweißstoffe ausfällen, über Papierfilter filtrieren oder zentrifugieren.

Zu 0,5 ml des Filtrates 0,5 ml 3% NaOH, 10 Minuten bei Zimmertemperatur stehen lassen, 0,5 ml Dinitrophenylhydrazin zugeben; Inkubation im Wasserbad 38° C/10 Minuten. Durch Zugabe von 3,5 ml 3% NaOH auf 5 ml anfüllen.

Die entstandene Färbung /strohgelb bis violett/ möglichst bald gegen die gleichzeitig subereitete Kontrollflüssigkeit mittels Photometer /grünes Filter 520 - 540 mμ/ auswerten. Der einzige Unterschied bei Zubereitung der Kontrollflüssigkeit besteht darin, dass die Lösung des Pdp erst nach der Inkubation, also unmittelbar vor der Enteisung zugefügt wird. Um also den Einfluss der Farbe des Serums und der Reagenzlösungen auszuschalten, werden alle Messungen nur im Vergleich mit der jeweils zugehörigen Kontrolle durchgeführt.

Benutzt werden Küvetten mit einer Flüssigkeitsschicht von 10 mm, photoelektrische oder optische Kolorimeter. Die Aktivität der Serumaldolase wird entweder durch die mit 100 multiplizierte Extinction /E x 100/ oder in Prozenten der Durchlässigkeit ausgedrückt.

Achtung! Menschliche Erythrocyten enthalten Aldolase und deshalb dürfen niemals haemolytische Sera benutzt werden, da sonst falsche positive Ergebnisse entstehen.

L i t e r a t u r e .

- 1/ Baker R.: J. Urol. 69, 426, 1953
- 2/ Bruns F.H.: Habilitationsschriften Düsseldorf, 1953
- 3/ Bruns F.H.: Biochem. Ztschr., 225, 156, 1954
- 4/ Bruns F.H.: Biochem. Ztschr., 225, 429, 1954
- 5/ Bruns F.H., Jacob W.: Klin.Wschr. 2, 43/44, 1041, 1954
- 6/ Bruns F.H., Puls W.: Klin.Wschr. 2, 27/28, 636, 1954
- 7/ Bruns F.H., Neuhaus J.: Biochem.Ztschr. 226, 242, 1955
- 8/ Cook J.L., Dounce A.L.: Proc.Soc.E.B.M., 87, 249, 1954
- 9/ Dounce A.L., Thannhauser B.G.: J.Biol.Chem., 175, 159, 1948
- 10/ Dounce A.L., Barnett S.R., Thannhauser B.G.: J.Biol.Chem., 185, 769, 1950
- 11/ Herbert D., Gordon H., Subrahmanyam V., Green D.E.: Biochem.J., 24, 1108, 1948
- 12/ Hess B.: Angew.Chem., 67, 252, 1955
- 13/ Jacob W., Neuhaus J.: Klin.Wschr., 2, 27/28, 923, 1954
- 14/ Meyerhof O., Lehmann K.: Biochem.Z., 271, 89, 1954
- 15/ Sibley J.A., Lehninger A.L.: J.Biol.Chem., 177, 859, 1949
- 16/ Sibley J.A., Lehninger A.L.: J.Nat.Canc.Inst., 9, 263, 1949
- 17/ Sibley J.A., Fleischer G.: Proc.Mayo Clin., 29, 391, 1954
- 18/ Sibley J.A., Fleischer G., Higgins G.N.: Canc. Res., 15, 5, 266, 1955
- 19/ Sibley J.A., Fleischer G.: Canc.Res., 15, 9, 609, 1955
- 20/ Schapira G., Dreyfus J.C., Schapira F.: Sm. Rep.: 29, 28, 1917, 1950
- 21/ Smith M.H.D., Kun E.: Brit.J.Exp.Path., 25, 1, 1954
- 22/ von Studnitz W.: Schw.Med. Wschr., 86, 7, 165, 1956
- 23/ Taylor J.F., Green A.A., Corri G.T.: J.Biol.Chem., 175, 1948
- 24/ Tovarnecký V.J., Voluskaja E.N.: ZMEL, 10, 1955
- 25/ Warburg O., Christian W.: Biochem.Z., 214, 299, 1943